



Wrocław, dn. 29 VI 2017 r.

dr hab. n. wet. Aleksander Chrószcz
profesor nadzwyczajny UPWr
Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

OCENA

Rozprawy doktorskiej lek. wet. Tomasza Gębarowskiego, pt. "Mechanizmy działania przeciwnowotworowego nowych pochodnych oliwacyny."

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska, pt.: „Mechanizmy działania przeciwnowotworowego nowych pochodnych oliwacyny”, autorstwa lek. wet. Tomasza Gębarowskiego, została wykonana pod kierunkiem prof. dr. hab. Kazimierza Gąsiorowskiego w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Celem niniejszej pracy była ocena aktywności przeciwnowotworowej współcześnie uzyskanych pochodnych oliwacyny, porównanie ich działania cytotoksycznego w stosunku do wybranych hodowli komórkowych linii nowotworowych z podobnym oddziaływaniem na komórki linii prawidłowych, jak również próba opisu mechanizmów działania badanych substancji (tj. pirydokarbazoli) obserwowanych w hodowlach komórek ludzkich linii nowotworowych.

Alkaloidy cechujące się obecnością układu pirydokarbazolowego znalazły się w obszarze zainteresowania nauk medycznych na przełomie lat 50-tych i 60-tych ubiegłego wieku. Zaobserwowane ich stosunkowo słabe działanie terapeutyczne w stosunku do komórek nowotworowych było powodem spadku zainteresowania tymi substancjami chemicznymi, mimo ich dodatkowych właściwości, czyli działania przeciw pierwotniacze czy przeciwwirusowe.



Możliwość uzyskania nowych, znacznie bardziej skutecznych, półsyntetycznych i syntetycznych pochodnych doprowadziła do ponownego zainteresowania ich działaniem i możliwością ich ewentualnego wykorzystania w chemioterapii nowotworów. Biorąc pod uwagę istotną rolę chemioterapii w leczeniu nowotworów występujących u ludzi, jak i współczesne możliwości syntezy kolejnych analogów oliwacyny, jako w pełni syntetycznych pirydokarbazoli, badanie *in vitro* nowych pochodnych oliwacyny wydaje się być zasadnym i wpisującym się w aktualne potrzeby nauk medycznych. Niniejsza praca doktorska stanowi, więc konieczny etap badań naukowych prowadzonych *in vitro*, poprzedzający badania *in vivo*, mogących prowadzić ostatecznie do skutecznego wykorzystania pochodnych oliwacyny w praktyce klinicznej.

Należy podkreślić, że w badaniach niniejszej pracy wykorzystano rekomendacje amerykańskiego NCI dotyczące stosowania zdefiniowanych, ciągłych hodowli komórkowych linii nowotworowych w badaniach skriningowych nowych preparatów przeciwnowotworowych.

Ponadto, zastosowanie obok nowoczesnych metod badawczych, klasycznej już metody polarograficznej, pozwalającej na opis oddziaływania badanych substancji względem DNA, stanowi wartościowe uzupełnienie współczesnej wiedzy, jako że w dostępnym piśmiennictwie brak jest doniesień na ten temat.

W końcu, istotne znaczenie ma wpływ pochodnych oliwacyny na efekty przeciwnowotworowe regulowane przez białko p53. Analiza wielokryterialna wykazała, że badane substancje chemiczne cechuje rekonstrukcja funkcji przeciwnowotworowych białka p53 w hodowlach zawierających zmutowany gen kodujący białko p53, a w przypadku typu dzikiego p53 zwiększają jego aktywność.

Z pracy również wynika, że syntetyczne pochodne oliwacyny są skuteczne w przypadku komórek wykazujących wielolekową oporność MDR.

Nie bez znaczenia są również skutki uboczne postępowania chemioterapeutycznego. Badania niniejszej pracy dowodzą stosunkowo niskiej toksyczności badanych pochodnych oliwacyny w stosunku do linii komórek prawidłowych, co znacznie zwiększa potencjalną możliwość zastosowania ich w praktyce.

Wszystkie wspomniane fakty przemawiają za uznaniem wysiłków badawczych autora za jak najbardziej zasadne, konieczne dla kolejnych etapów badania pochodnych oliwacyny przed ich ostatecznym ewentualnym wdrożeniem w postępowaniu chemioterapeutycznym.



Recenzowana rozprawa doktorska zawiera 129 stron tekstu podzielonego na następujące rozdziały: „Wstęp” (10 stron), „Cel pracy” (1 strona), „Materiał i metody” (22 strony), „Wyniki i ich omówienie” (57 stron), „Dyskusja” (15 stron), „Wnioski” (1 strona), „Piśmiennictwo” (8 stron), „Suplement” (6 stron) oraz „Streszczenie” (3 strony). Praca zawiera: 32 tabele, 4 mikrografie, 30 rycin (w tym 12 w suplemencie), 128 pozycji piśmiennictwa. Stwierdzam, że układ pracy jest poprawny i przejrzysty. Wprowadzone w tekst tabele i ryciny nie prowadzą do jego dezorganizacji i pozwalają uniknąć znacznej ilości odsyłaczy. Sugerowałbym jedynie przekształcenie kategorii „ryciny” w dwie odrębne kategorie, czyli ryciny oraz wykresy, a mikrografie włączyłbym do zbioru rycin. Wydaje mi się, że proponowana przeze mnie klasyfikacja dokumentacji pracy byłaby bardziej przejrzysta i intuicyjna.

Wstęp pracy daje czytelnikowi dobrą orientację zarówno w odniesieniu do przeglądu dostępnego piśmiennictwa związanego z tematyką pracy, jak i szczegółowo naświetla takie zagadnienia, jak np.: chemioterapia i znaczenie alkaloidów, jako leków przeciwnowotworowych, mechanizm działania oraz działanie przeciwnowotworowe eliptycyny i oliwacyny, czy też wpływ badanych substancji chemicznych na funkcję białek transportu błonowego szczególnie ważnych dla powstania wielolekowej oporności komórek nowotworowych (MDR).

Cel pracy został sformułowany poprawnie a materiał badawczy i zastosowane metody badawcze pozwoliły na pełną jego realizację. Rozdział: „Materiał i metody” jest szczególnie rozbudowany. Wynika to jednak z wielości metod stosowanych w trakcie badań prowadzonych w niniejszej pracy i jest w pełni uzasadniony.

Rozdział: „Wyniki i ich omówienie” przedstawia szczegółowy opis uzyskanych w trakcie badań wyników. Mimo ich znacznej ilości, autor przedstawił je przejrzysto i syntetycznie.

Kolejny rozdział: „Dyskusja” wydaje się być zbędny jako odrębny, tym bardziej że poprzedni rozdział został zatytułowany: „Wyniki i ich omówienie”. Sugerowałbym połączenie obu wspomnianych rozdziałów w jedną całość zatytułowaną „Omówienie wyników i dyskusja”. Prawidłowo przeprowadzona w niniejszej pracy dyskusja uzyskanych wyników z dostępnym piśmiennictwem pozwala uznać, że również obecne dwa osobne rozdziały, tj.: „Wyniki i ich omówienie” oraz „Dyskusja” stanowią spójną całość, a czytelnik uzyskuje jasne uzasadnienie



kończących pracę wniosków. W zawiązku z tym ewentualne połączenie wspomnianych rozdziałów w jedną całość pozostawiam w gestii autora pracy.

Manuskrypt kończy sześć w pełni zasadnych i prawidłowo sformułowanych wniosków. A całości rozprawy dopełniają: „Piśmiennictwo”, „Suplement” oraz „Streszczenie”. Jedyną sugestią dotyczącą tych trzech części recenzowanej pracy jest sugestia o uzupełnienie jej w tłumaczenie tytułu pracy oraz streszczenia na język angielski.

Należy podkreślić, że wartość merytoryczna pracy, swoboda poruszania się autora w imponującej liczbie wyników badań oraz rzeczowa dyskusja uzyskanych wyników z doniesieniami innych autorów dowodzi biegłej znajomości tematu pracy przez jej twórcę oraz szczególnie dowodzi ważkiej roli promotora, jako opiekuna naukowego.

Autorowi nie udało się ustrzec przed pewnymi błędami. Dla przykładu, na 8 stronie pracy pojawia się termin „1-pyrido[4,3-b]carbazole” pisany przez C zamiast K czy też termin „pitrydokarbazoli” w miast pirydokarbazoli na stronie 10 albo wielka litera W zamiast małej na stronie 27. Sformułowanie zamieszczone na stronie 36 i 37, tj. „na powietrzu”, wydaje się nazbyt kolokwialne, w tabeli 19 zamiast skrótu GI₅₀ widnieje IG₅₀ a dodatkowa spacja na stronie 66 wydaje się zbędna. Żaden z wyżej wspomnianych błędów nie umniejsza jednak wartości merytorycznej niniejszej pracy i winien być jedynie poprawiony przed przekazaniem jej do druku.

W końcu, należy zaznaczyć, że wysoce zasadnym byłoby wykonanie badań toksyczności badanych związków chemicznych w szerokim panelu hodowli komórek prawidłowych. Być może autor planuje zajęcie się tym tematem w odrębnej pracy badawczej w przyszłości?

Ze względu na oryginalność i znaczenie dla rozwoju dyscypliny naukowej ocenianej rozprawy doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie do Wysokiej Rady Wydziału Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Na zakończenie stwierdzam, że wszystkie uwagi zamieszczone w niniejszej recenzji mają jedynie charakter korekcyjny nie rzutując, na jakość i zasadność przeprowadzonych badań. Ocenianą rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko, szczególnie podkreślając jej merytoryczność, przejrzystość oraz znaczenie dla dalszych badań nad pochodnymi oliwacyny i ich zastosowaniem w chemioterapii. A zatem z pełnym przekonaniem uważam, że przedstawiona do oceny praca doktorska pod tytułem „Mechanizmy działania przeciwnowotworowego nowych pochodnych oliwacyny”



UNIwersytet PRZYRODniczy we Wrocławiu
ZAKŁAD ANATOMII ZWIERZĄT

stanowi wartościowy wkład dla nauk medycznych i spełnia warunki określone art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz odpowiada warunkom określonym w § 6 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora i przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. wet. Tomasza Gębarowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami Szacunku

dr hab. n. wet. Aleksander Chrószcz

prof. nadzw. UPWr